

NICOLLE VEIGA SYDNEY

**EFICIÊNCIA DO MÉTODO DE DESGASTE COM DESCALCIFICAÇÃO POSTERIOR
PARA ESTIMATIVA DE IDADE DE UMA POPULAÇÃO DE BOTO-CINZA,
SOTALIA GUIANENSIS (VAN BÉNÉDEN, 1864) (CETACEA: DELPHINIDAE)**

Monografia apresentada ao Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof ° Dr. Emygdio Leite de Araújo Monteiro-Filho

**CURITIBA
2007**

**“Donnez-mois une dent et je vous
dirai les moeurs et la structure de
l’animal auquel elle a appartenue”
CUVIER**

Agradecimentos

Aos meus pais pela confiança depositada durante todos esses anos.

Aos meus irmãos pela compreensão (por me deixarem tomar conta do computador)

À minha avó, ao tio Mário e à tia Joana por todo apoio durante minha graduação.

Ao professor e orientador Emygdio Monteiro-Filho, por todo apoio e incentivo durante a realização desse trabalho.

À Regina Célia Zanelatto, que doou sua coleção ao Museu de Ciências Naturais da UFPR e que gentilmente, me cedeu todos seus dados.

Ao professor Euclides Fontoura da Silva Jr. e ao professor Fernando Sedor que foram os meus orientadores durante toda a graduação e permitiram que eu utilizasse a coleção do Museu de Ciências Naturais. Ao Euclides, por me ensinar a importância da educação, da extensão e dos trabalhos em grupo e ao Fernando por todo auxílio durante a realização desse trabalho, além de me mostrar como anatomia pode ser interessante.

Ao pessoal do Museu, pelo apoio e companheirismo de todos esses anos, principalmente ao David pela ajuda e paciência desde o tombamento do material até a tentativa, muitas vezes frustrada, de responder todas minhas perguntas sem respostas.

Aos meus amigos, que transformaram crises em risadas, principalmente ao Zé por ter agüentado firme e forte e não ter trocado de dupla nas matérias de licenciatura (mesmo fazendo a maior parte dos trabalhos).

Ao pessoal da sala 359 e 360 por permitirem gentilmente que eu utilizasse, por algumas vezes, as lupas da sala e ao Antônio, pelo auxílio na produção das fotos.

Ao Chico Buarque e aos Los Hermanos, que me acompanharam durante todo o processo de desgaste dos dentes.

Ao meu namorado, Rodrigo, pela paciência, incentivo e ajuda.

Sumário

● RESUMO.....	4
● INTRODUÇÃO	5
● MATERIAL E MÉTODOS	8
● RESULTADOS.....	11
● DISCUSSÃO.....	16
● REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
● ANEXOS	24

RESUMO

Grande parte das técnicas que vêm sendo empregadas para a estimativa de idade de *Sotalia guianensis* é bastante custosa, já que necessitam de sofisticados aparelhos para cortes histológicos dos dentes e coloração para leitura ao microscópio óptico. Por outro lado, há técnicas mais simples e baratas, que vem sendo utilizadas com sucesso para odontocetos maiores, baseadas no desgaste manual do dente seguido de descalcificação e observação sob lupa. Desse modo, o estudo se propôs a aplicar e testar o método supracitado para *S. guianensis*, a fim de baratear e simplificar o processo de estimativa de idade desses animais, possibilitando um aumento de estudos sobre estruturas etárias e diminuindo a falta de informações sobre materiais osteológicos. Foram selecionados, emblocados, desgastados e desmineralizados, 26 dentes de *S. guianensis* para a realização da leitura das suas camadas de crescimento. Posteriormente, as idades aqui estimadas foram comparadas aos dados já obtidos pelo método de seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado. Em todos os casos as camadas foram evidenciadas, sendo que em 85% do material as mesmas puderam ser claramente contadas, enquanto que em 15% o mesmo não ocorreu, já que foi notada uma diminuição de espessura das camadas. Os casos onde a leitura ficou confusa devido à espessura reduzida das camadas, eram de indivíduos com 18 anos ou mais, os quais apresentaram diferenças de mais de dois anos quando os dois métodos foram comparados. Nesses casos, o método aqui proposto não se mostrou eficiente. Em 30,77% dos dentes, o número de camadas encontrado pelas duas técnicas avaliadas foi o mesmo. Em 38,46% e 15,38% dos dentes, a idade estimada variou em um e dois anos, respectivamente, comparando-se os dois métodos. Acredita-se porém, que essas diferenças de um ou dois anos, sejam resultado de divergências nas interpretações com relação ao número de camadas e não propriamente do método utilizado para preparação do dente para leitura. Sendo assim, ressalta-se a aqui a importância do estabelecimento de padrões para os diferentes leitores, a fim de que estruturas etárias possam ser efetivamente comparadas. Apesar da falta de padronização de leitura, o método agora aplicado se mostrou eficiente para a determinação da idade de *Sotalia guianensis* com idade inferior a 18 anos, o que virá a facilitar o estudo de estruturas etárias de populações, permitindo a utilização de um método mais custoso somente para indivíduos com idades avançadas.

INTRODUÇÃO

O boto-cinza, *Sotalia guianensis* (van Bénédén, 1864), é um pequeno cetáceo comum no litoral brasileiro, que ocorre desde Honduras na América Central até o Estado de Santa Catarina no sul do Brasil (Geise e Borobia, 1987; Simões-Lopes, 1988; Borobia *et al.*, 1991; Monteiro-Filho *et al.*, 2006-b) e segundo Carvalho (1963), acompanha a distribuição dos manguezais. Pertence à subordem Odontoceti, a qual apresenta representantes com dentes. Os odontocetos, como todos os outros mamíferos, são tecodontes, ou seja, apresentam os dentes inseridos em alvéolos. Sua dentição difere da dos outros mamíferos por ser homodonte (todos os dentes apresentam a mesma forma) e monofiodonte (uma única dentição ao longo da vida), podendo cada indivíduo de *Sotalia* apresentar de 112 a 148 dentes (Ramos *et al.*, submetido; Monteiro-Filho *et al.*, 2006-a).

Os dentes são constituídos por vários tecidos. O mais interno deles é a polpa, um tecido conjuntivo mole que origina e nutre a dentina, a qual consiste em um tecido conjuntivo duro que envolve a cavidade pulpar central. Externamente à dentina, na região da coroa anatômica, encontra-se um tecido conjuntivo rígido, altamente mineralizado, conhecido como esmalte. O cemento é um tecido rígido que cobre a raiz do dente e oferece suporte ao mesmo. A dentina e o cemento são tecidos que tem deposição contínua ao longo da vida do animal, podendo mostrar registros dos processos de seu desenvolvimento (Della Serra e Ferreira, 1979; Cate, 2001). À medida que ocorre a formação e deposição da dentina pela polpa, a cavidade pulpar se reduz, sendo possível verificar que indivíduos mais jovens possuem a cavidade pulpar maior, enquanto que os mais velhos apresentam a cavidade pulpar menor (Slooten, 1991).

Um dos primeiros relatos sobre camadas de deposição de dentina em dentes de cetáceos ocorreu com cachalotes na década de 1930 (Scheffer & Myrick, 1980). Contudo, em 1950, Scheffer relatou grupos de camadas de crescimento anuais em dentes de pinípedes (Carnivora), as quais eram formadas pela contínua deposição de cemento e dentina, o que revelava a possibilidade da utilização destas camadas na estimativa de idade cronológica dos animais estudados. Posteriormente, Nishiwaki e Yagi (1953) demonstraram a possibilidade da utilização desta técnica para cetáceos. Este tipo de estudo, utilizando o “Grupo de Camada de Crescimento” (“Growth Layer Group” - GLG), teve

grande desenvolvimento com o estudo de algumas espécies em cativeiro e com idade conhecida (Seargent, 1959), passando posteriormente a ser utilizado para muitas espécies de mamíferos marinhos (Scheffer & Myrick, 1980). Assim, a partir do número de camadas de dentina e cemento e sua correlação com a idade do animal, pode se estabelecer quantos anos correspondem a uma camada de crescimento (Hohn, 1990), estimando-se então, a idade do animal. Para *Sotalia guianensis*, cada camada de crescimento tem sido considerada como correspondente a um ano (Rosas, 2000).

As camadas de dentina podem ser completas (camadas anuais), as quais partem da base do dente, atingem o ápice e retomam a base, ou então incompletas (camadas subanuais), que não estão presentes em toda longitude do dente. As últimas, conhecidas também como linhas acessórias, não devem ser consideradas para realização da estimativa da idade, já que não são formadas por uma deposição anual (Hohn, 1990). Além disso, sabe-se que a deposição da dentina inicia-se três ou quatro meses após a concepção do embrião, formando a dentina pré-natal. A dentina pós-natal tem sua deposição iniciada após o nascimento (Myrick, 1980, 1991, *apud* Ramos & Di Benedetto, 2005). Assim sendo, a camada formada pela dentina pré-natal, e a linha neonatal, também não devem ser consideradas para realização da estimativa de idade do animal. Como os cetáceos são monofiodontes todas as camadas de dentina e cemento depositadas no dente ao longo da vida podem ser verificadas, ao contrário do que ocorre nos animais que realizam troca de dentição.

O reconhecimento das diferentes classes etárias de uma população é de extrema importância para estudos de avaliação de estoques reprodutivos, causas de mortalidade, além de padrões demográficos (Rosas, 2000; Ricklefs, 2003), e segundo Hohn (1990), para cetáceos odontocetos a estimativa de idade pode ser considerada prioridade nos estudos relacionados ao ciclo de vida e à biologia de populações. Para *Sotalia guianensis*, as classes etárias podem ser divididas com base na maturidade sexual, considerando-se indivíduos com até 5 anos imaturos sexualmente, de 6 até 24 anos maduros sexualmente e com mais de 25 anos senescentes. (Rosas e Monteiro-filho, 2002)

Várias técnicas vêm sendo empregadas para a determinação da idade de cetáceos através da contagem do "grupo de camadas de crescimento", formada pela deposição de

dentina e cemento. Entre elas: desgaste sem descalcificação (Schmiegelow, 1990); desgaste e descalcificação posterior (Pierce & Kajimura, 1980); seção fina de dente descalcificado e corado (Ramos, 1997; Ramos *et al.*, 2000; Rosas, 2000) e seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado (Crespo *et al.*, 1994; Ramos *et al.*, submetido). Porém, para *Sotalia guianensis* as técnicas utilizadas com maior frequência são bastante custosas, já que necessitam de sofisticados aparelhos de cortes histológicos e coloração para leitura ao microscópio óptico. Uma das técnicas mais simples e baratas, que foi utilizada com sucesso para odontocetos maiores como *Tursiops truncatus* e *Orcinus orca* é a que utiliza desgaste manual do dente seguido de descalcificação e observação sob lupa (Pierce & Kajimura, 1980) (Figura 1).

Mesmo considerando as variações de técnicas que permitem o estabelecimento da idade cronológica dos botos-cinza (ver Ramos *et al.*, submetido), grande parte do material osteológico depositado em coleções científicas ainda não possui a determinação da idade dos animais ao momento da morte, provavelmente pelo alto custo e complexidade das técnicas aplicadas, junto à falta de pessoal treinado.

Sendo assim, a proposta deste trabalho é aplicar e testar a técnica de desgaste manual com descalcificação posterior, a fim de baratear e simplificar o processo de estimativa de idade desses animais, possibilitando um aporte maior de estudos sobre estruturas etárias e diminuindo a grande falta de informações sobre materiais osteológicos depositados em coleções científicas.

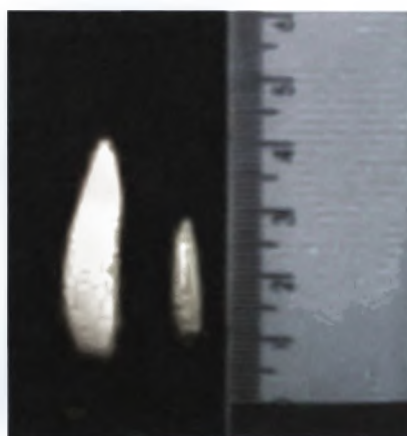


Figura 1. Vista lingual de dente de *Tursiops truncatus* (à esquerda) e *Sotalia guianensis* (à direita).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dentes de espécimes depositados na coleção do Museu de Ciências Naturais da Universidade Federal do Paraná, os quais estavam conservados a seco (anexo 1). Esses animais foram coletados entre os anos de 1989 e 1993, no litoral do Estado do Paraná. O método utilizado neste trabalho para determinação de idade se baseia na técnica proposta por Pierce & Kamijimura (1980).

Foram selecionados, ao acaso, 26 espécimes de *Sotalia guianensis* dentre 75 que já tinham sua idade determinada pelo método de seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado (Crespo *et al.*, 1994). Posteriormente, um dente de cada indivíduo foi selecionado para a preparação. Esta seleção teve como base os dentes maiores, menos curvos e sem desgaste por abrasão dentária (Ramos *et al.*, submetido), os quais são localizados geralmente, na região mediana da mandíbula e maxila. Apesar dos cetáceos serem classificados com homodontes, os dentes da região mediana da maxila e da mandíbula, são maiores e menos curvos que os das regiões anterior e posterior. Rosas *et al.* (2003) mostraram que o número de camadas contadas nos dentes menores, da região anterior do rosto, era metade daquele contado nos dentes da região mediana. Depois de selecionado, cada dente foi incluído em um bloco de resina acrílica auto polimerizada, para que o material pudesse ser desgastado.

Para emblocar os dentes foram confeccionadas formas de papel, recortando tiras de cartolina de 2 x 10 cm., as quais foram envolvidas por papel contact. Com as tiras foram montados retângulos que foram colados sobre um vidro, vedando bem com fita adesiva para evitar o vazamento da resina líquida. Posteriormente, uma mistura de resina e catalisador foi derramada no retângulo de cartolina até aproximadamente 0,8 cm, formando uma fina camada. Após cerca de 2 minutos, quando a resina já se encontrava mais consistente, o dente foi colocado sobre a mesma com a superfície lingual voltada para baixo e uma nova camada de resina e catalisador foi derramada sobre a peça, até encobrir o dente. O bloco formado foi retirado facilmente da cartolina com auxílio de um estilete, após 24 horas. O mesmo processo foi realizado utilizando formas de alumínio para velas ao invés de tiras de cartolina.

Os dentes foram desgastados até a porção medial e o processo de desgaste de cada dente levou em média 30 minutos. Para realizar o desgaste dos blocos foram utilizadas lixas d'água números 220, 400, 600 e 1200. As lixas devem ser utilizadas nessa ordem, já que as granulações decrescentes eliminam falhas e ranhuras (Ramos *et al.*, submetido).

Rosas *et al.* (2003), não detectaram diferenças entre as idades estimadas utilizando seções no plano antero-posterior ou no plano labial-lingual, porém os autores recomendam que o plano labial-lingual seja utilizado, a fim de facilitar a obtenção de seções centrais. Além disso, Pinedo e Hohn, (2000), demonstraram que em seções descentralizadas, as camadas acessórias podem não ser identificadas. Sendo assim, os dentes foram desgastados no plano labial-lingual, objetivando a obtenção de seções centrais.

Seguiu-se então com a descalcificação, que foi feita mergulhando o bloco desgastado, sempre com a face desgastada para cima, em ácido fórmico 25% por cerca de uma hora. Logo depois a peça foi lavada com água e deixada em repouso para secagem em temperatura ambiente por 24 horas. Depois deste procedimento, as bandas de dentina passam a ficar evidenciadas em razão da desmineralização diferencial, que ocorre pela reação do ácido fórmico com o mineral do dente, formando cristas seguidas de depressões (Ramos *et al.*, submetido).

A leitura das camadas de crescimento foi feita sob lupa (Figura 2 e 3). Segundo Ramos e Di Benedetto (2005), para o método de desgaste com descalcificação posterior a iluminação refletida é a mais indicada para realização da leitura. Neste trabalho, para que as camadas pudessem ser lidas com maior precisão, o dente foi colocado sobre uma placa de Petri, a qual estava posicionada sobre um espelho. Um foco de luz foi direcionado sobre o dente e sobre o espelho, fazendo com que a luz pudesse incidir sobre o dente sombreando as camadas, além de ser emitida do espelho para o dente, destacando as camadas de dentina e cemento. A distinção entre cristas e depressões pode ser realçada mudando-se a direção da fonte da luz até obter-se o grau ideal de sombreamento e reflexo (Ramos e Di Benedetto, 2005).

A primeira linha, linha neonatal, que aparece logo abaixo da dentina pré-natal não foi contada, já que a mesma é formada antes do nascimento do animal. As camadas devem ser contadas então, considerando-se somente as camadas completas, ou seja, que partem da

base do dente, atingem o ápice e retomam a base, evitando a contagem de linhas acessórias. Além do mais, a camada mais interna (a última a ser formada) foi considerada sempre que presente (Figura 3).

Antes da obtenção da leitura final, uma série de leituras foi realizada por mais de uma pessoa e após discussões, foi estabelecido o critério para a contagem das camadas. Seguindo recomendações de Pinedo e Hohn (2000) a última das leituras é que foi utilizada para a estimativa de idade, assumindo-se que a acuidade de leitura melhora com a prática.

Posteriormente, as idades estimadas através do método proposto foram comparadas aos dados já obtidos anteriormente pelo método de seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado, realizada por Regina Célia Zanelatto com os mesmos espécimes (ver Ramos *et al.*, submetido).

RESULTADOS

Depois de finalizados todos os processos de preparação do material para a leitura, pode-se perceber que em todos os casos as camadas de crescimento foram evidenciadas. Notou-se também, que em 85% dos dentes, as camadas puderam ser claramente contadas, enquanto que em 15% dos dentes, percebeu-se uma diminuição de espessura das mesmas, impossibilitando a contagem.

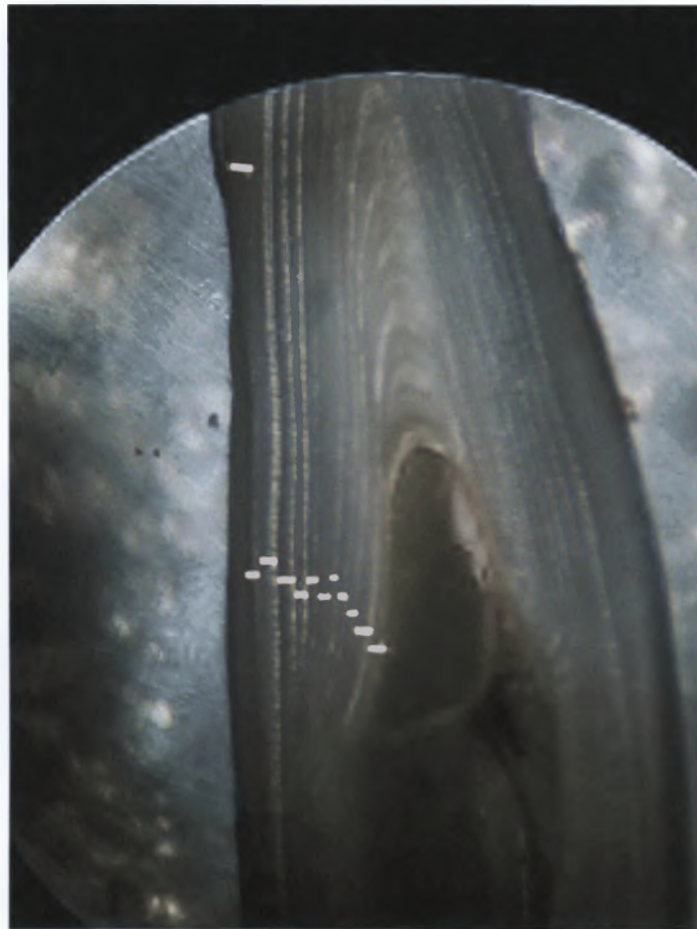


Figura 2. Vista parcial de dente de *Sotalia guianensis* após o processo de desgaste (MCN-026). O Tracejado indica as camadas de dentina, sendo a primeira delas (a mais externa, na porção superior do dente) a camada neonatal.

A primeira camada de crescimento encontrada (logo após a camada neonatal) é representada por uma depressão seguida de uma crista. Quando uma crista antecede uma depressão, foi detectada como a camada mais interna do dente, esta foi contada independentemente de sua espessura, uma vez que indica que o animal já completou ou está por completar determinada idade (uma vez que mais de metade do ciclo de deposição já foi identificado após a última camada contada – formando uma depressão completa e uma crista incompleta) (Figura 3).

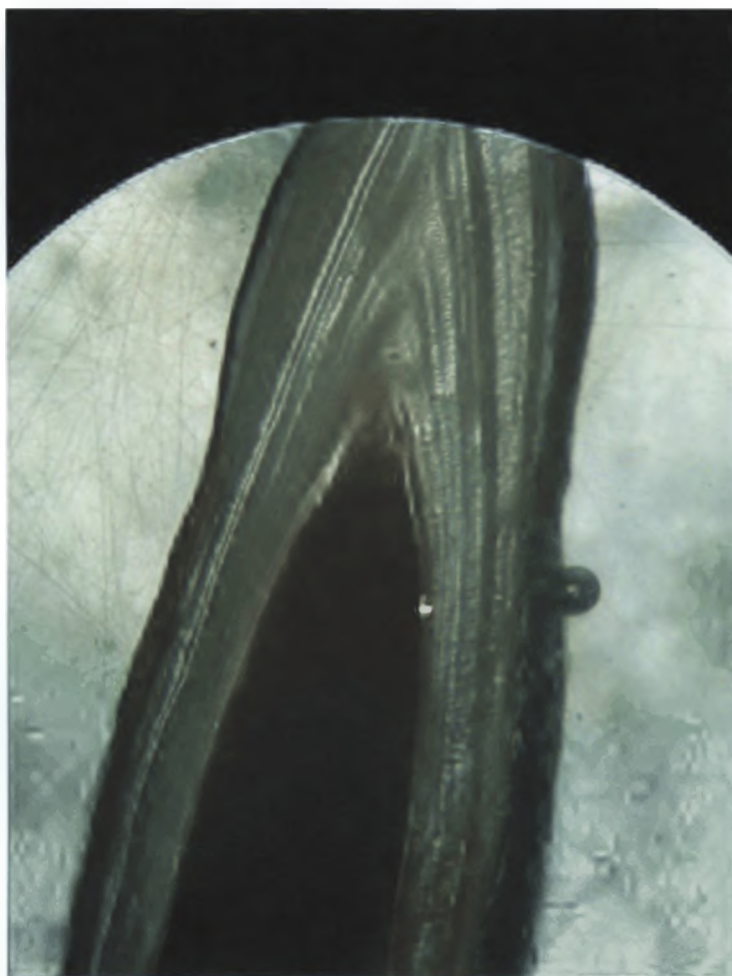


Figura 3. Vista parcial de dente de *Sotalia guianensis* após o processo de desgaste (MCN-092). O traço indica a camada mais interna, que foi considerada neste estudo.

A variação de idade dos espécimes estudados pelo método de desgaste com descalcificação posterior foi de 2 a 23 anos. Já pelo método de seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado foi de 1 a 24 anos. (conforme Zanelatto, *In*: Ramos *et al.*, submetido).

Foi possível perceber que em 30,77% dos casos, a idade estimada pelos dois métodos foi exatamente a mesma. Em 38,46% e 15,38% dos casos, a idade estabelecida pelo método de desgaste com descalcificação posterior era de um ano a mais ou a menos e dois anos a mais ou a menos, respectivamente, do que a estabelecida pelo método de seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado. Somente em 15,38% dos casos a idade estimada pelos dois métodos diferiu por mais de dois anos (Tabela 1 e 2; Figura 4).

Nos casos onde a idade estimada pelos dois métodos diferiu em mais de dois anos, os indivíduos apresentavam 18 anos ou mais, pelo método de seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado. Pode-se perceber nos dentes que apresentavam mais de 17 camadas de crescimento, que a contagem pelo método de desgaste com descalcificação posterior pode ficar confusa, já que a espessura das camadas diminui e as cristas ficam justapostas.

Verificou-se também, que poucas diferenças na estrutura etária foram encontradas quando os dois métodos foram comparados, uma vez que o número de indivíduos em cada classe etária, de acordo com a maturidade sexual, se manteve praticamente o mesmo (Tabela 2).

Tabela 1. Comparação da idade estimada para cada espécime de *Sotalia guianensis*, pelos dois diferentes métodos. N representa a idade estimada por este estudo e o número ao seu lado acompanhado do sinal – ou +, indica a diferença (para mais ou para menos) encontrada em relação ao método utilizado por Zanelatto (Ramos *et al.*, submetido).

Número de tombo	Este estudo	Zanelatto	Comparação
MCN-003	9	9	igual
MCN-004	12	12	igual
MCN-010	11	13	N+2
MCN-011	14	20	N+6
MCN-014	7	8	N+1
MCN-017	11	11	igual
MCN-019	4	4	igual
MCN-026	11	13	N+2
MCN-027	15	15	igual
MCN-033	9	10	N+1
MCN-038	7	8	N+1
MCN-042	23	24	N+1
MCN-043	7	7	igual
MCN-044	4	4	igual
MCN-045	4	3	N-1
MCN-055	5	6	N+1
MCN-060	17	18	N+1
MCN-061	15	18	N+3
MCN-063	4	3	N-1
MCN-071	5	3	N-2
MCN-072	19	23	N+4
MCN-083	4	4	igual
MCN-085	18	24	N+6
MCN-091	8	7	N-1
MCN-092	6	8	N+2
MCN-093	2	1	N-1

Tabela 2. Comparação da estrutura etária de *Sotalia guianensis*, encontrada pelos métodos de desgaste com descalcificação posterior e seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado.

Número de indivíduos	Este estudo	Zanelatto
Imaturos sexualmente	8	7
Maduros sexualmente	18	19
Senescentes	0	0

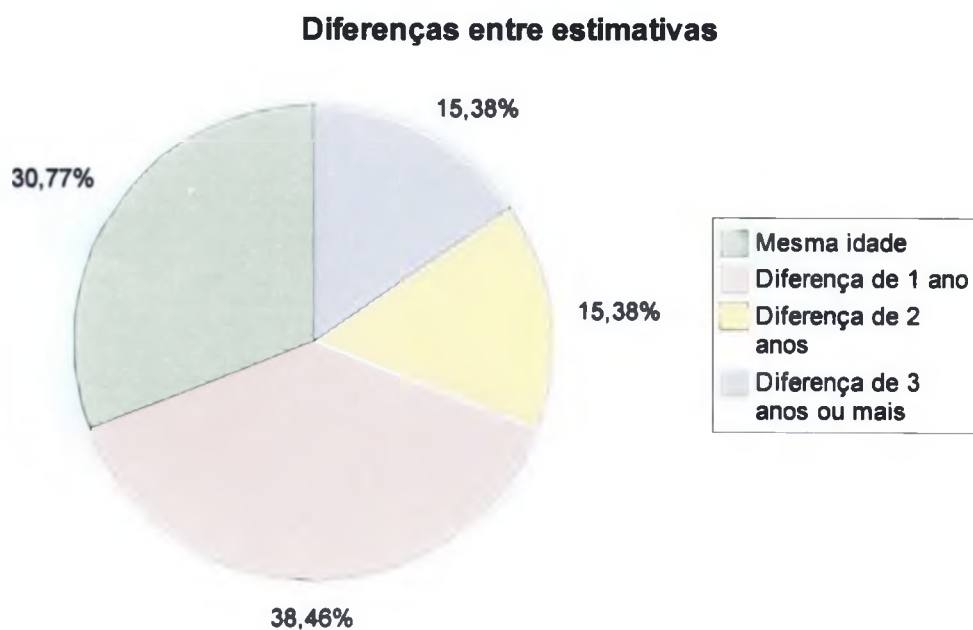


Figura 4. Diferenças encontradas entre as idades estimadas pelos métodos de desgaste com descalcificação posterior e seção fina de dente descalcificado, tratado com alúmen e corado, para *Sotalia guianensis*.

DISCUSSÃO

O método de desgaste com descalcificação posterior permitiu, na maioria das vezes, a contagem segura até 17 camadas de crescimento. Observou-se que as diferenças de mais de dois anos, aconteceram somente em indivíduos com 18 anos ou mais, com os quais a idade não pode ser estimada por este método, devido a uma redução na espessura das camadas e uma conseqüente justaposição de cristas. Nesses casos, o método aqui proposto não se mostrou eficiente.

Sabendo-se que existem diferenças nas interpretações com relação ao número de camadas, é provável que a diferença de até dois anos encontrada pelos dois métodos seja apenas um erro de leitura de camadas de crescimento, e não propriamente do método de preparação do dente para a leitura. Esses problemas de interpretação podem ocorrer devido à presença de camadas acessórias e da camada neonatal, as quais podem ser contadas erroneamente. Além disso, muitos leitores não consideram a última camada formada, se a mesma é ainda muito fina ou incompleta (Ramos e Di Benedetto, 2005; Ramos *et al.*, submetido).

A contagem da linha neonatal ou de uma linha acessória como uma camada de crescimento anual, aumenta em um ano a idade real do indivíduo. Para um indivíduo de 10 anos, por exemplo, esse erro não é muito relevante, contudo para um indivíduo de 1 ano, esse erro dobra a idade do mesmo, o que pode alterar a estrutura etária de determinada amostra. Por outro lado, a camada mais interna, que normalmente é desconsiderada quando muito fina ou incompleta (ver Ramos *et al.*, submetido), foi considerada sempre que presente, mesmo quando mais fina do que as outras, já que a mesma indica que o animal ou completou ou está por de completar determinada idade. Se a crista seguida de uma depressão estiver presente, mesmo que muito fina, esta indica que a deposição de dentina no dente do animal, durante aquele ano, já se iniciou há mais do que meio ciclo (formando uma depressão completa e uma crista incompleta).

Dessa maneira, destaca-se aqui a importância do estabelecimento de um padrão para todos os leitores, os quais deveriam receber um treinamento, para que, dessa forma, estruturas etárias de diferentes populações possam ser efetivamente comparadas.

Porém, a dificuldade de se estabelecer um padrão para essas leituras está, provavelmente, relacionado ao fato de não se saber ao certo as razões da formação das camadas de crescimento (Hohn *et al.*, 1989 *apud* Rosas *et al.*, 2003). Podemos pensar que a deposição de dentina é contínua ao longo da vida do animal, porém não homogênea. Caso contrário a desmineralização aconteceria igualmente em toda região da dentina e não com a irregularidade apresentada. Uma hipótese é a de que quando o ácido entra em contato com o tecido, a região que tinha menor densidade de mineral se torna uma depressão e a que tinha maior densidade se torna uma crista, possibilitando assim a contagem das camadas de crescimento. Contudo a razão dessa deposição diferencial de mineral ser realizada com regularidade a cada ano é desconhecida, apesar de Boyde (1980), Klevezal (1980) e Myrick (1980) (*apud* Rosas *et al.*, 2003) sugerirem alguns fatores que levariam a formação das camadas, entre eles: variações sazonais no padrão de crescimento; ciclos genéticos fisiológicos; alterações alimentares; alterações hormonais e fatores intrínsecos do metabolismo geral.

Com relação às variações sazonais, Slooten (1991) notou que em *Cephalorhynchus hectori* havia diferenciação entre a última linha formada (crista ou depressão) em indivíduos que tinham morrido entre fevereiro e junho e entre novembro e dezembro. Isso indica que poderia haver uma deposição maior de mineral, e uma maior densidade de dentina, em algum desses períodos. Considerando alterações alimentares, a dentina reage com a introdução de fluorido, calciferol e uma série de outros componentes no organismo, formando camadas com diferentes graus de mineralização. Com isso, alterações na dieta do animal podem ser detectadas na dentina (Klevezal, 1986). Além disso, McLaren (1958) (*apud* Seargent, 1962), sugere que a maior densidade de dentina seja resultado de uma dieta mais rica, a qual leva a uma maior calcificação.

Com base nestas informações, as variações sazonais encontradas por Slooten, 1991 em *Cephalorhynchus hectori*, podem ter ocorrido devido à que fatores? Se for levado em consideração que a temperatura da água varia menos que a do ar e que os cetáceos, além de serem endotérmicos, apresentam adaptações anatômicas e fisiológicas para a manutenção (camada de gordura) e dissipação de temperatura (sistema de contra-corrente nas nadadeiras peitorais) (Ridgway, 1972), a possibilidade de formação de camadas de

crescimento por diferença de temperatura é muito baixa. Se as camadas são influenciadas por diferença de fotoperíodo, aumentando a deposição de dentina em períodos de maior ou menor luminosidade, um pico de luz em um período de pouca luz, iria alterar a deposição de dentina e ocorreria a formação de uma nova camada. Se a nova camada formada fosse uma camada completa, ocorreria uma diferenciação na idade final estimada, por outro lado se a nova camada formada fosse incompleta e considerada uma camada acessória, não haveria diferenciação na estimativa de idade.

Já as alterações na dieta do animal, poderiam levar à formação de camadas com diferentes graus de mineralização, sendo a mineralização maior, provavelmente relacionada a uma dieta com menor quantidade de componentes ácidos (Klevezal, 1986). Resta saber se o animal apresenta um ciclo de alimentação, ingerindo mais alimentos que reajam com a dentina em um período e menos alimentos que reajam com a dentina em outro período, formando assim as camadas de crescimento.

O mesmo pode ocorrer com a existência de períodos onde o animal tenha uma dieta mais ou menos rica em cálcio. Sabe-se que em períodos de seca a disponibilidade de alimento é maior, uma vez que os peixes se concentram na desembocadura dos rios, facilitando assim a captura dos mesmos pelos golfinhos (da Silva e Best, 1994). Dessa forma, se ocorrer uma seca em um período de cheia, ou qualquer outro fator que aumente a disponibilidade de alimento, é provável que ocorra a deposição de uma nova camada com maior calcificação.

Assim, apesar de todo desconhecimento sobre os processos de formação das camadas de crescimento, é aqui destacada a importância de um padrão a ser seguido pelos leitores. O método agora aplicado se mostrou eficiente para a estimativa de idade de *Sotalia guianensis* com idade inferior a 18 anos, o que virá a facilitar o estudo de estruturas etárias de populações, permitindo a utilização de um método mais custoso somente para indivíduos com idades avançadas. Além disso, a adoção desse método permite uma maior utilização de espécimes depositados em coleções científicas, possibilitando o aumento de indivíduos com idades determinadas, a fim de conhecer de maneira clara a estrutura das populações amostradas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borobia, M.; Siciliano, S; Lodi, L. and Hoek, W.,1991. Distribution of the South American dolphin *Sotalia fluviatilis*. **Canadian Journal of Zoology**, 69: 1025-1039.
- Carvalho, C. T. 1963. Sobre um boto comum no litoral do Brasil. (Cetacea: Delphinidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 23: 263-276.
- Cate, A. R. T., 1998. **Histologia bucal – desenvolvimento, estrutura e função**. Guanabara Koogan. 5ª edição.
- Crespo, E. A.; Schiavini, A.; Perez Macri, G.; Reyes, L. & Dans, S., 1994. Estudos sobre la determination de edad em mamíferos del Atlântico sudoccidental. *In: Actas de la IV Reunion de Trabajo de Especialistas en Mamíferos Acuáticos da América del Sur*. p. 31-55.
- Da Silva, V. M. F. and Best, R. C., 1996. *Sotalia fluviatilis*. **Mammalian Species** 527: 1-7
- Della Serra, O. e Ferreira, F. V., 1976. **Anatomia Dental**. Livraria Editora Artes Médicas. 2ª edição.
- Geise, L. & Borobia, M., 1987. New Bazilian Records for *Kogia*, *Pontoporia*, *Grampus*, and *Sotalia* (Cetacea, Physeteridae, Platanistidae, and Delphinidae). **Journal of Mammalogy**, 68(4): 873-875.
- Hohn, A. A. 1990. Reading between the lines: analysis of age determination in dolphins. *In: The Bottlenose Dolphin*, Eds. S. Leatherwood & R. R. Reeves. Academic Press, San Diego. p.575-585.

- Kasuya, T. and Brownell, R. L. Jr., 1979. Age Determination, Reproduction, and Growth of the Franciscana Dolphin, *Pontoporia blainvillei*. **Scientific Reporter of Whales Research Institute** 31 : 45-67.
- Klevegal, G. A., 1996. **Recording Structures of Mammals. Determination of Age and Reconstruction of Life History**, 274 p. A. A. Balkema, Rotterdam, Netherlands.
- Miyazaki, N., 1980. Preliminary Note on Age Determination and Growth of the Rough-Toothed Dolphin, *Steno bredanensis*, off the Pacific Coast of Japan. In: Age determination of toothed whales and sirenians. W. F. Perrin & A. C. Myrick (Eds.). **Reports of International Whaling Commission, Special Issue 3**.
- Monteiro-Filho, E. L. A.; Filla, G. F.; Domit, C.; Oliveira, L. V., 2006-a. Ordem Cetacea: 305-346. In: **Mamíferos do Brasil**. Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A. e Lima, I. P. (Eds.), 2006
- Monteiro-Filho, E. L. A.; Filla, G. F.; Santos, M. C. R.; Domit, C.; Oliveira, L. V.; Lima, J. S., 2006-b. In: **Revisões em Zoologia I**. Monteiro-Filho, E. L. A. e Aranha, J. M. R. (Eds.), 2006 SEMA/PR
- Nishiwaki, M. & Yagi, T. 1953. on the age and growth of teeth in a dolphin, *Prodelphinus coeruleo-albus*. **Scientific Reporter of Whales Research Institute**, 8: 133-146.
- Pierce, V. K. & Kajimura, H., 1980. acid etching and highlighting for defining growth layers in cetacean teeth. In: Age determination of toothed whales and sirenians. W. F. Perrin & A. C. Myrick (Eds.). **Reports of International Whaling Commission, Special Issue 3: 99-101**.

Ramos, R. M. A., 1997. **Determinação de idade e biologia reprodutiva de *Pontoporia blainvillei* e de *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Pontoporidae e Delphinidae) no norte do Rio de Janeiro.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos de Goytacazes, RJ, Brazil.

Ramos, R. M. A.; Di Benedetto, A. P. M.; Siciliano, S.; Santos, M. .; Zerbini, A. N.; Bertozzi, C.; Vicente, A.; Zampirulli, E.; Siqueira, F.; Vivo, M. de; Lima & Lima, N. R. W., 2000. Informações Sobre Idade e Crescimento de *Pontoporia blainvillei* no Litoral Sudeste do Brasil. **quarto workshop para a coordenação da pesquisa e conservação da franciscana, *Pontoporia blainvillei*, no Atlântico Sul Ocidental.** (UFRGS, novembro de 2000)

Ramos, R. M. A. e Di Benedetto, A. P. M., 2005. **Guia para estudo de cetáceos. Volume 3 – métodos para determinação de idade em cetáceos odontocetos.** Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Ramos, R. M. A.; Rosas, F. C. W.; Simões-Lopes, P. C.; Zanelatto, R. C.; Dans, S.; Crespo, E. A. 2006. Capítulo 16. Estimativa de idade. In: **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza.** Emygdio L. A. Monteiro-Filho & Karin D. K. A. Monteiro (orgs), submetido.

Ricklefs, R. E. 2003. **A Economia da Natureza.** Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 503p.

Ridgway, S. H., 1972. **Mammals of the Sea – Biology and Medicine.** Charles C. Thomas Publisher

- Rosas, F. C. W. 2000. **Interação com a pesca, Mortalidade, idade, reprodução e crescimento de *Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei* (Cetacea, Delphinidae e Pontoporidae) no litoral sul do estado de São Paulo e litoral do estado do Paraná, Brasil.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- Rosas, F. C. W. and Monteiro-Filho, E. L. A., 2002. Reproduction of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) on the coast of Paraná, southern Brazil. **Journal of Mammalogy**, **83** (2) : 507-515.
- Rosas, F. C. W.; Barreto, A. S. e Monteiro-Filho, E. L. A., 2003. Age and growth of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) (Cetacea, Delphinidae) on the Paraná coast, Southern Brazil. **Fishery Bulletin** **101**:377-383.
- Scheffer, V. B. 1950. Growth layers on the teeth of Pinnipedia as indication of age. **Science**, **112** (2907): 309-311.
- Scheffer, V. B. & A. C. Myrick. 1980. A review of studies to 1970 of growth layers in the teeth of marine mammals. p. 51-63. *In*: Age determination of toothed whales and sirenians. W. F. Perrin & A. C. Myrick (Eds.). **Reports of International Whaling Commition, Special Issue 3**: 229 p.
- Schmiegelow, J.M.M., 1990. **Estudo sobre cetáceos odontocetes encontrados em praias da região entre Iguape (SP) e baía de Paranaguá (PR)(24⁰.42'S-25⁰.28'S) com especial referência a *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853) (Delphinidae).** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.
- Seargent, D. E., 1959. Age Determination in Odontocete Whales from Dentinal Growth Layers. **Norsk Hvalfangsttid**, **48** (6) : 273 –288.

Seargent, D. E., 1962. The Biology of the Pilot or Pothead Whale *Globicephala melaena* (Traill) in Newfoundland Waters. **Bulletins of the Fisheries Research Board of Canada**, 132.

Simões-Lopes, P. C. 1988. Ocorrência de uma população de *Sotalia fluviatilis* Gervais 1853, (Cetacea, Delphinidae) no limite sul de sua distribuição, Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, 1:57-62.

Slooten, E., 1991. Age, Growth, and Reproduction in Hector's Dolphins. **Canadian Journal of Zoology**, 69: 1689-1700.

Anexo 1

Espécimes utilizados, da coleção do Museu de Ciências Naturais da Universidade Federal do Paraná.

MCN-003

MCN-004

MCN-010

MCN-011

MCN-014

MCN-017

MCN-019

MCN-026

MCN-027

MCN-033

MCN-038

MCN-042

MCN-043

MCN-044

MCN-045

MCN-055

MCN-060

MCN-061

MCN-063

MCN-071

MCN-072

MCN-083

MCN-085

MCN-091

MCN-092

MCN-093